

Das Blasenkarzinom
und sein Proliferationsverhalten
— Eine autoradiographische Untersuchung —

Karl Metzger

München 1988



Aus dem Strahlenbiologischen Institut
der Universität München
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. G. Riethmüller

**Das Blasenkarzinom
und sein Proliferationsverhalten
- Eine autoradiographische Untersuchung -**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt
von
Karl Metzger
aus
München
1988

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. K.-R. Trott

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Riethmüller

Prof. Dr. G. Staehler

**Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:** Dr. J. Kummermehr

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. April 1988

**Das Blasenkarzinom
und sein Proliferationsverhalten
- Eine autoradiographische Untersuchung -**

gewidmet meiner Mutter Anna Metzger

vorgelegt von Karl Metzger

Geltendorf 1988

Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott ehemals Strahlenbiologisches Institut der Universität München, jetzt Department of Radiation Biology, Medical College of St. Bartholomew's Hospital, London danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Herzlichen Dank sage ich Herrn Dr. J. Kummermehr vom Institut für Strahlenbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg bei München, für den fachkundigen Rat und die freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit.

Herrn Chefarzt Dr. Reiditsch vom Pathologischen Institut des Krankenhauses München-Bogenhausen danke ich ganz besonders für die wertvollen Hinweise bei der histopathologischen Begutachtung der Präparate.

Für die hilfsbereite Einführung und Anleitung bei den praktischen und methodischen Verfahren bedanke ich mich bei Fräulein Pfeifer vom Strahlenbiologischen Institut der Universität München.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. A. Hofstetter, dem damaligen Chefarzt der Urologischen Abteilung des Krankenhauses München, Thalkirchner Straße für die Überlassung des Untersuchungsmaterials.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	6
2.1 Untersuchungsmaterial	6
2.2 Bearbeitung der Gewebeproben	6
2.3 Inkubation ₃ mit radioaktiv markiertem Thymidin (³ H-TdR)	8
2.4 Einbettung in Methacrylat und Herstellung der Schnitte	9
2.5 Färbung und Autoradiographie	10
2.6 Zeichnung und Auswertung	11
3. Ergebnisse	13
3.1 Fallaufstellung	13
3.2 Darstellung der Einzelfälle	14
4. Diskussion	37
4.1 Normaler Aufbau der Harnblase	37
4.2 Ätiologische und epidemiologische Betrachtung des Blasenkarzinoms	38
4.3 Inzidenz, Alters- und Geschlechtsverteilung	41
4.4 Allgemeine Einteilung der Blasentumoren	42
4.5 Klassifikation der epithelialen Harnblasentumoren	43
4.6 Biologie und Pathogenese des Harnblasenkarzinoms	46
4.7 Räumliches Muster der Zellproliferation	49
4.8 Zellkinetik	51

4.9	Differenzierungsgrad und Markierungsindex	54
4.10	Potentielle Verdopplungszeit	58
4.11	Therapeutischer Ausblick	61
5.	Zusammenfassung	64
6.	Literaturverzeichnis	65
7.	Lebenslauf	73

Einleitung

1. Das Karzinom der Harnblase gehört zu den häufigeren bösartigen Neubildungen und ist für etwa 3% aller Krebstodesfälle verantwortlich. Es ist der häufigste Tumor aller Organe der Harnwege und steht somit nach dem Prostatakarzinom an zweiter Stelle im Fachgebiet des Urologen (36, 50, 57, 66).

In epidemiologischen Studien wurde innerhalb der letzten Jahrzehnte eine deutliche Zunahme der Inzidenz von Harnblasenkarzinomen festgestellt, was mit dem Schadstoffanstieg in der Umwelt oder am Arbeitsplatz, mit einer besseren Erfassung und Diagnostik oder mit der veränderten Altersstruktur der Bevölkerung in Zusammenhang gebracht wird. Das Blasenkarzinom ist eine Erkrankung besonders des höheren Alters, so daß bei steigender Lebenserwartung auch mehr Ältere Menschen davon betroffen sein werden (1, 4, 5, 38, 41, 59). Es entwickelt sich häufig über einen langen Zeitraum symptomlos und wird oft erst durch Zufall bei einer Routineuntersuchung entdeckt, sei es durch eine Mikrohämaturie oder bei einer Röntgen- oder Ultraschalluntersuchung. Eine Hämaturie, die in etwa 80% der Fälle auftritt, ist bereits Ausdruck eines fortgeschrittenen Tumorstadiums (31, 36, 49). Darüber hinaus führt eine intermittierende Makrohämaturie den Patienten oftmals nicht sofort, sondern erst

nach mehrmaligem Auftreten zum Arzt, so daß in vielen Fällen noch über ein Jahr verstreicht, ehe er einer weitergehenden Diagnostik zugeführt werden kann (41). Für eine optimale Therapieplanung und für möglichst zutreffende prognostische Aussagen ist die exakte Bestimmung des Malignitätsgrades (Grading) und die Ermittlung der Infiltrationstiefe des Tumors (Staging) von ausschlaggebender Bedeutung (25, 60, 64, 65).

Häufig zeigen jedoch Tumoren gleichen Differenzierungsgrades und gleichen Stadiums der Tumorausbreitung ein völlig unterschiedliches Proliferationsverhalten und ein Teil davon zeichnet sich durch eine hohe maligne Potenz aus.

So brechen bereits 7 - 10% der Gl-Karzinome in Lymphbahnen ein (50). In einer erheblichen Anzahl der Fälle ist eine Tumorprogression, das heißt eine Abnahme des Differenzierungsgrades zu beobachten (11, 51).

Mit zunehmender Entdifferenzierung steigt wiederum die Bereitschaft zu infiltrativem Wachstum (64).

Bei fortschreitendem Tumorstadium treten also mäßig und schlecht differenzierte Tumoren in den Vordergrund (40).

Das Carcinoma in situ, ein definitionsgemäß auf die Mucosa beschränkter Tumor, der die Basalmembran nicht durchbrochen hat, zeigt im Allgemeinen eine schlechte Prognose (34, 36, 50).

Diese neoplastische Bildung in einem frühen Stadium

stellt sowohl diagnostisch wie auch therapeutisch ein gewisses Problem dar, da sie zystoskopisch oft von normaler Schleimhaut oder von unspezifischen Veränderungen nicht unterschieden werden kann (37). Sie tritt in der Mehrzahl der Fälle multifokal auf und kann somit nicht exzidiert werden (18). Im weiteren Verlauf entwickeln sich ca. 60% der Carcinomata in situ hin zu einem invasiven Karzinom (32, 38). Dagegen persistiert bei etwa 25% der Patienten der Befund bzw. ist nach variabler Beobachtungsdauer nicht mehr nachzuweisen (42).

Um neben den histomorphologischen Kriterien noch weitere Parameter zu bekommen, die das unterschiedliche biologische Verhalten der einzelnen Tumoren noch besser beschreiben wurden verschiedene Ansätze gemacht. Schauer e.a. (55) konnten durch Gabe von Dibutyl-nitrosamin(DBNA), Butylbutanolnitrosamin(BBNA) und N-(4-(5-Nitro-2-Furyl)-2-Thiazolyl)-Formamid(NFTF) bei Ratten Tumoren erzeugen, die morphologisch weitgehend den urothelialen Tumoren beim Menschen entsprechen. Als Frühveränderung fanden sie eine irreversible Zu- bzw. Abnahme der Aktivität bestimmter Enzyme in scharf umschriebenen Schleimhautbezirken der Harnblase. Bei autoradiographischen Untersuchungen ergab sich eine starke Erhöhung der Proliferationsrate in diesen Bereichen, meßbar als Markierungsindex.

Reynold e.a.(46) untersuchten mittels eines Weichagaransatzes die Koloniebildungsrate einer Urothelzellsuspension und erstellten den sogenannten Clonogenic Index (CI). Die Höhe des CI korrelierte mit dem Auftreten oder Fehlen eines Harnblasentumors. So steigt der CI bei Rezidiven an und fällt bei erfolgreicher Therapie und Tumorfreiheit ab.

In jüngerer Zeit kommen auch immunhistochemische Methoden zur Anwendung. Mit einer Antikörpermarkierung des Tissue Polypeptide Antigens (TPA) läßt sich z.B. die Stromainvasion durch ein Carcinoma in situ frühzeitig nachweisen (70).

Gewebsmarkierungen über das Carcinoembryonale Antigen(CEA) zeigen Abstufungen, die mit zellkinetischen Analysen vergleichbar sind. Jedoch treten bei einem Carcinoma in situ(CIS) im Vergleich mit schwerer Atypie geringfügig stärkere CEA-Reaktionen auf, was sich aber zellkinetisch nicht unterscheiden läßt. Überdies weisen exophytische und papilläre Tumorformen eine mehr membrangebundene Markierung auf, wohingegen bei soliden, invasiven Tumoren eine überwiegend diffuse, zytoplasmatische Anfärbung erfolgt. Dies kann ein Hinweis auf das unterschiedliche biologische Verhalten zweier Tumorformen sein (27, 28).

Flowcytometrische Untersuchungen, die den DNA-Gehalt von Übergangsepithelzellen, gewonnen aus Biopsien, transurethralen Resektionen, Zystektomien oder aus

Harnblasenspülflüssigkeit ermitteln, zeigen, daß mit fortschreitendem Stage und Grade die aneuploiden Tumoren zunehmen (68, 69). Chin e.a. (12) wiesen in ihrem Untersuchungsmaterial nach, daß alle Ta-Tumoren euploid, jedoch bereits 27% der T1-Tumoren aneuploid waren. Bei vier Patienten wurde mittels einer Harnblasenspülzytologie ein CIS diagnostiziert, was in allen Fällen aneuploid war. Diese Befunde eines Abweichens vom normalen Chromosomensatz können auf eine gesteigerte Malignität hindeuten, was auch mit der insgesamt schlechten Prognose eines CIS übereinstimmen würde.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Proliferationsverhalten von Blasenkarzinomen. Mittels eines in-vitro-Kurzzeitinkubationsverfahrens wurden in der S- Phase befindliche Zellen durch tritiiertes Thymidin(³H-TdR) markiert und autoradiographisch dargestellt. Durch eine Auszählung ist die Bestimmung des Markierungsindex (LI = Labelling Index) möglich. Diese Untersuchung soll das Datenmaterial erweitern und einen Einblick in das räumliche Proliferationsmuster von Karzinomzellen ermöglichen.

Frühere Arbeiten zeigen eine Abhängigkeit des Markierungsindex vom histologischen Grade, doch treten deutliche Schwankungen in der Proliferationsrate innerhalb der einzelnen Stufen auf (15, 17, 24, 25, 26, 27, 28, 45, 64, 66).



2. Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsgut stammt von Patientinnen und Patienten der Urologischen Klinik München Thalkirchner Straße, die im Zeitraum zwischen März 1983 und April 1984 dort in Behandlung waren. Die Gewebeproben stammen entweder von Probeexzisionen mit etwa Reiskorngröße oder von transurethralen Resektionen mit bis zu Linsengröße. Nur ein Präparat fiel aus einer Teilresektion der Harnblase an (Präparat U₆).

Unmittelbar nach Entnahme wurde das Material in ein Probenröhrchen mit Hank's Lösung verbracht.

Die Dauer von der Gewebsentnahme bis zur in vitro Inkubation im Strahlenbiologischen Institut in der Schillerstraße belief sich auf etwa 30 bis 40 Minuten.

Die Präparate wurden ihrem Eingang entsprechend mit U₁ bis U₁₆ durchnummeriert. Sechs der Proben mußten aussortiert werden, da sie kein oder zu wenig Tumorgewebe enthielten oder keine Markierung aufwiesen.

2.2 Bearbeitung der Gewebeproben

Um ein Austrocknen des Materials zu vermeiden, wurden sofort nach Entnahme aus dem Nährmedium mittels eines

sogenannten Tandemmessers etwa 360 µm dicke Scheibchen auf einer Korkunterlage geschnitten. Pro Gewebssprobe wurden vier bis sechs Scheibchen gefertigt, je nach Größe und Beschaffenheit des zu bearbeitenden Materials. Das Tandemmesser besteht aus einer Halterung, in die drei Rasierklingen im Abstand von 0,36 mm parallel miteinander verschraubt sind. Um die Schnitte zu schonen und möglichst untraumatisiert zu erhalten, wurden für jedes Präparat die Rasierklingen erneuert.

Die bioptische Gewebssentnahme durch das Zystoskop bot den Vorteil, daß der Operateur gezielt aus einem schon makroskopisch erkennbaren Tumor Material entnehmen konnte. Die geringe Menge und die oft sehr weiche Konsistenz des Materials ergab eine gewisse Schwierigkeit beim Herstellen der Gewebsscheibchen. Die Gewebsspäne, die bei einer transurethralen Resektion anfielen, waren wesentlich größer und meist von festerer Konsistenz, so daß die Aufarbeitung keine Schwierigkeiten bereitete. Als Nachteil erwies sich jedoch die Tatsache, daß man nicht sicher sein konnte, ob die ausgewählten Gewebsspäne überhaupt oder in ausreichender Menge Geschwulstgewebe enthielten.

2.3 Inkubation mit radioaktiv markiertem Thymidin (^3H -TdR)

Als Inkubationsmedium wurde Eagle's Lösung mit einem Zusatz von tritiiertem Thymidin verwendet. Die Aktivität des Mediums betrug $2 \mu\text{Ci/ml}$ ($7,4 \times 10^4 \text{ Bq/ml}$) bei einer spezifischen Aktivität von $2 - 5 \text{ Ci/mmol}$ ($0,74 - 1,85 \times 10^{11} \text{ Bq}$).

In eine kleine Plastikpetrischale mit 5 cm Durchmesser wurden 8 ml Lösung eingebracht und die vorbereiteten Scheibchen in ausgebreitetem Zustand eingelegt. Die Petrischale wurde sodann in einen Drucktank aus Plexiglas gegeben. Zur Messung der Tankinnentemperatur und des Druckes war das Gerät mit den entsprechenden Armaturen versehen. Nach mehrmaligem sorgfältigem Durchspülen der Druckkammer mit reinem Sauerstoff wurde sie bei einem Druck von $2,5 \text{ atü O}_2$ endgültig verschlossen. In einem Wasserbad mit einer Schüttelfrequenz von 25/min erreichte der Tank in 30 Minuten eine Innentemperatur von 37°C . Die Inkubation wurde für 120 Minuten fortgesetzt. Danach wurde der Tank belüftet und geöffnet und die aktive Lösung mit einer Spritze entfernt. Anschließend wurden die Präparate dreimal für fünf Minuten mit Hank's Lösung, die einen Zusatz von nicht markiertem Thymidin enthielt, gespült um nicht eingelagertes ^3H -TdR auszuwaschen.

2.4 Einbettung in Methacrylat und Herstellung der Schnitte

Die nach Absaugen der Spülflüssigkeit am Gefäßboden plan ausgebreiteten Scheibchen wurden mit einer Siebplatte aus V_2A -Blech abgedeckt und mit einer Alkohol/Formalin Mischung überschichtet. Nach 60 Minuten waren die Scheibchen so gut anfixiert, daß sie ohne Schwierigkeiten zur endgültigen Fixierung in eine Biopsiekapsel des Einbettungsautomaten übertragen werden konnten, wo sie ebenfalls mit einer Siebplatte beschwert wurden. Bei diesen Scheibchen von 360 μm genügt eine Fixierzeit von etwa 24 Std. Das Entwässern der Gewebsschnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe wurde mittels eines Einbettungsautomaten (Autotechnicon, Fa. Technikon) über sechs bis sieben Stunden bewerkstelligt. Für weitere 16 Stunden verblieben die Präparate auf einem Schüttler in 100%igem Äthanol (durch Molekularsieb 3 Å entwässert). Danach erfolgte das Eingießen der Gewebsscheibchen in Methylmethacrylat über die Zwischenstufen monomeres Acrylat, monomeres Acrylat plus Starter und Weichmacher. Als Gußgefäße dienten zylindrische Probengläschen von 2 cm Durchmesser. Nach Verschließen mit perforierten Schnappdeckeln wurden die Proben im Brutschrank bei 40° C über Nacht ausgehärtet. Nach Sprengung der Gefäße wurden die Blöcke seitlich

angefräst, so daß nur ein prominenter mittlerer Steg von Methacrylat verblieb, der das Gewebsscheibchen enthielt. Mit einem motorgetriebenen Hartschnittmikrotom (Typ Minot 1130, Fa. Jung) wurden pro Block acht bis zehn Serienschnitte von 3 µm Stärke gefertigt. Nach dem Abnehmen wurden sie zur Streckung in ein Warmwasserbad gebracht und von hier auf entfettete und mit Gelatine beschichtete Objektträger aufgezogen. Jeweils acht Schnitte mit einer Zwischenfolie aus Kunststoff wurden übereinander in eine Preßvorrichtung eingespannt und über Nacht im Trockenschrank belassen.

2.5 Färbung und Autoradiographie

Mittels HE gefärbter Präparate aus verschiedenen Schnittiefen wurden jeweils zwei Schnittebenen für die Autoradiographie ausgewählt. Zwei Nachbarschnitte wurde für die differenzierte Strukturdarstellung einer PAS-Färbung zugeführt. Von der Autoradiographie wurden die Schnitte mit Methylglykolacetat entacryliert und mit 99%igem Äthanol gespült und anschließend getrocknet. In der Dunkelkammer wurden die Präparate durch Eintauchen in Kodak NTB 2 Photoemulsion beschichtet. Während der Expositionsdauer von vier Wochen wurden die Schnitte in einem lichtundurchlässigen Behälter im Kühlschrank gelagert. Nach dieser

Zeit wurden die Schnitte entwickelt und fixiert (Kodak Entwickler D19b; Kodak Unifix). Die autodiographierten Schnitte wurden nach einer 20 minütigen Vorbehandlung mit alkoholischer Ammoniaklösung nach Kardasewitsch mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

2.7 Zeichnung und Auswertung

Mit einem Projektionsgerät wurde eine maßstabgetreue Skizze der Umrisse und erkennbaren Strukturen gefertigt. Details wurden über das Mikroskop ergänzt und den einzelnen Strukturen zeichnerische Symbole zugeordnet.

Die quantitative Auswertung erfolgte bei 1.000-facher Vergrößerung unter Verwendung eines Ölimmersionsobjektives (Objektiv 100-fache, Okular 10-fache Vergrößerung). Mit Hilfe eines Strichplattenokulars wurde die Gesamtzahl der Tumorzellen und die Anzahl der markierten Tumorzellen, die von zwei parallelen Linien eingeschlossen bzw. geschnitten wurden ermittelt. Für eine randomisierte Auswertung wurden diese Banden immer im selben Abstand weitergeführt und so das ganze Präparat ausgezählt. In einigen Schnitten wurden kleinere Tumorzellen auch in toto ausgezählt. Im allgemeinen waren die Markierungen der Zellkerne kräftig und eindeutig. Weniger gut markierte Zellen wurden nur dann als markiert eingestuft, wenn mehr

als fünf Silberkörner den Zellkern überlagerten. Normalerweise lag der Nulleffekt deutlich unter dieser Korndichte. Im Fall einzeln liegender Zellen war es manchmal schwierig zu entscheiden, ob es sich um eine Geschwulstzelle handelte oder nicht. Hier wurden nur Zellen als maligne angesehen, die einem Tumorzellverband angehörten.

Der Markierungsindex der Tumorzellpopulation in % ergibt sich folgendermaßen:

$$LI = \frac{N_m \times 100}{N}$$

LI = Markierungsindex (Labelling Index)

N = Anzahl der ausgezählten Tumorzellen

N_m = Anzahl der markierten Tumorzellen

Die morphologische Befundung der Autoradiogramme stützt sich auf die pathologisch-anatomischen Gutachten des Krankenhauses München-Schwabing und des Krankenhauses München-Bogenhausen. Mit Unterstützung des pathologischen Instituts des Krankenhauses München-Bogenhausen (Chefarzt Dr. Keiditsch) wurde Besonderheiten des histologischen Aufbaus der einzelnen Präparate und besonders des Differenzierungsgrades Rechnung getragen.

3. Ergebnisse

3.1 Fallaufstellung:

In Tabelle 1 sind chronologisch nach ihrem Eingang die Präparate mit Alter und Geschlecht des Patienten, der Diagnose und dem ermittelten Durchschnittswert des Markierungsindex (LI) aufgeführt.

Tabelle 1

Nr	Patient	Diagnose	LI %
U ₂	M.J., 55 a, m	papilläres uroth. Ca Grad 2	4,28
U ₃	H.M., 71 a, w	invasives uroth. Ca Grad 3	18,19
U ₅	S.G., 65 a, w	papilläres uroth. Ca Grad 2	3,30
U ₆	B.A., 48 a, m	invasives uroth. Ca Grad 2	3,84
U ₇	R.W., 72 a, m	invasives uroth. Ca Grad 3	3,56
U ₈	F.E., 59 a, m	papilläres uroth. Ca Grad 2	4,79
U ₁₁	S.A., 62 a, m	invasives uroth. Ca Grad 3	11,00
U ₁₃	S.H., 67 a, w	papilläres uroth. Ca Grad 2	3,52
U ₁₄	S.H., 64 a, m	invasives uroth. Ca Grad 3	5,69
U ₁₅	K.A., 74 a, m	initiales papill. Ca Grad 1	5,26

3.2 Darstellung der Einzelfälle

Es folgen vier Photographien von Präparaten verschiedener Differenzierungsgrade und die maßstabsgetreuen Zeichnungen der einzelnen Präparate mit histologischer Beschreibung, Bemerkungen zum Verteilungsmuster der markierten Zellen und die histopathologische Begutachtung.

Den verschiedenen Strukturen der Präparate wurden folgende Symbole zugeordnet:



Tumorgewebe



Tumorgewebe, das die Muskulatur infiltriert



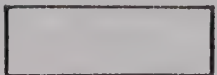
Muskulatur



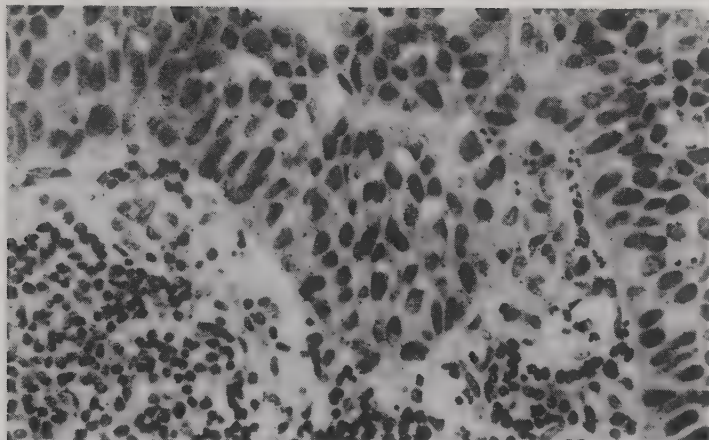
entzündliches Infiltrat



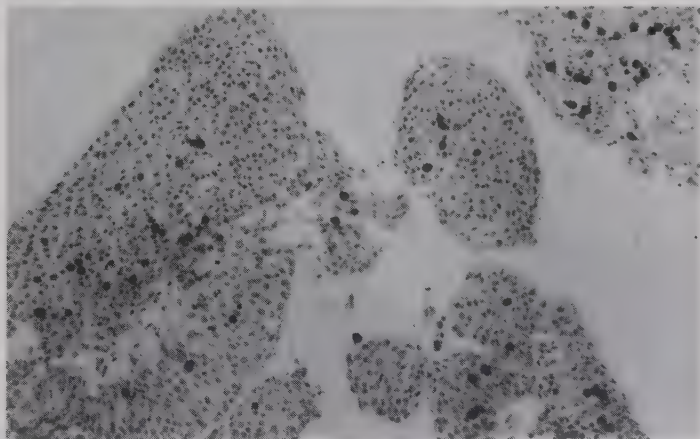
denaturiertes Gewebe



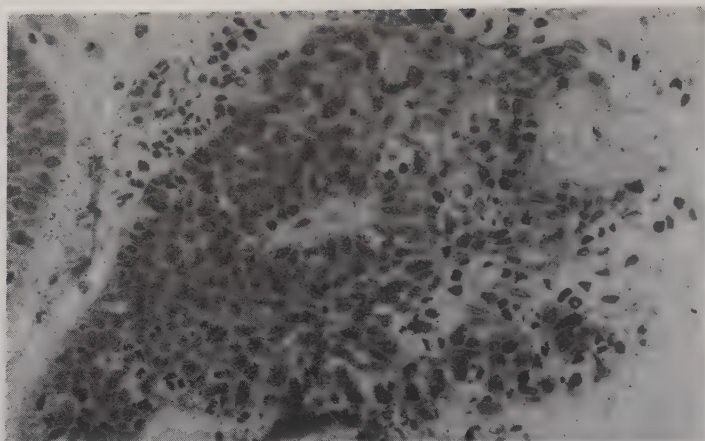
Bindegewebe



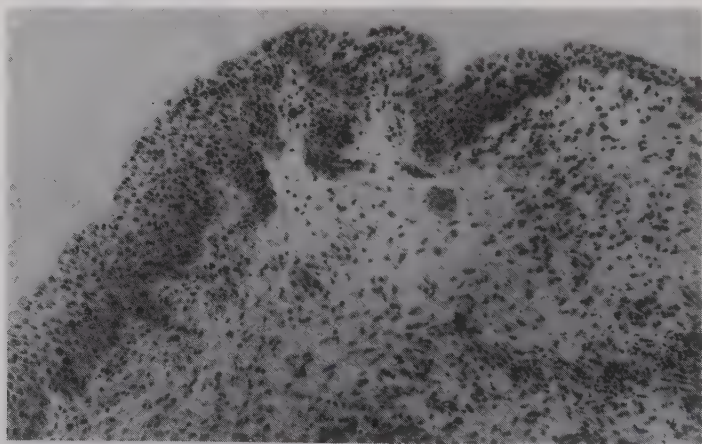
Präparat U₃: Tumorzellnest des invasiven urothelialen Karzinoms ³G 3 mit hoher Markierungsdichte in allen Schichten. Links unten in der Bildecke findet sich reichlich lymphozytäres Infiltrat (HE 340 x)



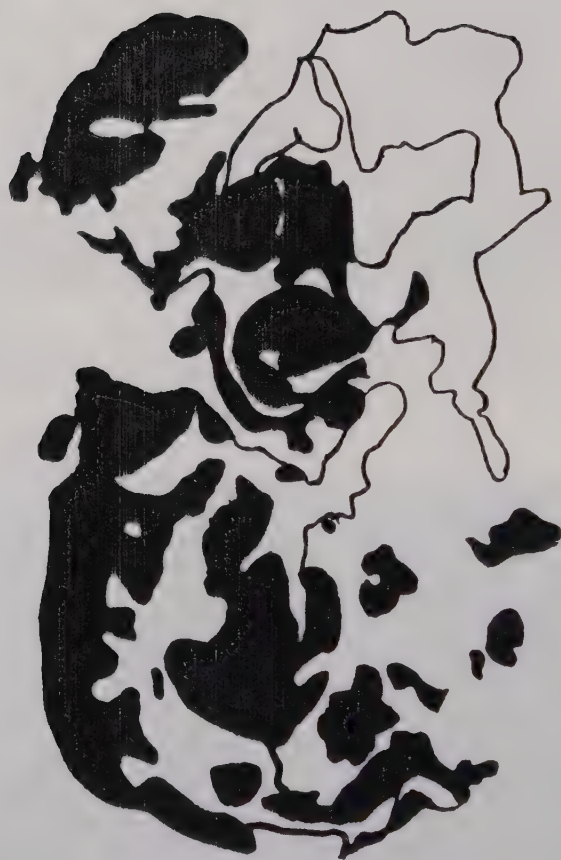
Präparat U₈: Grobpapilläre längs und quer geschnittene Strukturen mit verbreitertem atypischen Epithel. Die kräftig markierten Zellen (hohe Silberkorndichte) finden sich in allen Schichten des Urothels. Papilläres urotheliales Karzinom G 2 (HE 240 x)



Präparat U₁₁: Quer geschnittene papilläre Struktur aus einem invasiven urothelialen Karzinom G 3 mit auffallend hohem Markierungsindex und starker Kernpolymorphie (HE 340 x)



Präparat U₁₅: Das verbreiterte Urothel zeigt eine intakte Deckzellschicht (Crusta). Der Übergang zum normalen Urothel ist zu erkennen. Im Schleimhautbindegewebe findet sich entzündliches Infiltrat. Atypische Hyperplasie mit Übergang in initiales Karzinom G 1 (HE 240 x)



1mm

U₂: M.J., 55 a, m
LI. 4, 28 8

Patient: M.J., 55 Jahre

Präparat: U₂

Histologie:

Das Präparat zeigt teils längs teils quer geschnittene papilläre Strukturen des Geschwulstgewebes mit verbreitertem atypischen Urothel.

Zytologisch zeigt sich eine mäßige Kernpolymorphie und Hyperchromasie mit einzelnen Mitosen.

Kein Hinweis auf infiltratives Wachstum.

Autoradiographie:

Papilläre Strukturen zeigen eine höhere Markierungsdichte in den basalen und mittleren als in den höheren Schichten des Urothels. Markierte Tumorzellen im Schleimhautbindegewebe sind eher diffus verteilt.

LI: 4,28%

Begutachtung:

Papilläres urotheliales Karzinom Grad 2



U₃: H.M., 71 a, w
 D. 18, 19 8

Patientin: H.M., 71 Jahre

Präparat U₃

Histologie:

Dieses Präparat zeigt zwei Anteile, von denen Teil A gut erhalten ist und papilläre Strukturen eines niedrig differenzierten urothelialen Karzinoms mit starker Verbreiterung eines atypischen Epithels aufweist. Die Zellkerne zeigen erhebliche Größenschwankungen und deutliche Hyperchromasie. Das Schleimhautbindegewebe weist reichlich plasma- und lymphozelluläres Infiltrat auf. Teil B zeigt besonders im Randbereich eine starke Schädigung durch die elektrische Abtragung. Im Zentrum wird die glatte Muskulatur von einem niedrig differenzierten Geschwulstgewebe infiltriert. Auch hier sind die Zellkerne polymorph und deutlich hyperchromatisch.

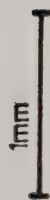
Autoradiographie:

Teil A weist eine sehr hohe Markierungsdichte in allen Schichten des Epithels auf. Teil B zeigt unregelmäßig verstreut wenige markierte Tumorzellen.

LI: 18,19%

Begutachtung:

Invasives urotheliales Karzinom Grad 2



U₅: S.G., 65 a, w
LI. 3,30 g

Patientin: S.G., 65 Jahre

Präparat: U₅

Histologie:

Der Gewebsschnitt zeigt zahlreiche quer und längs geschnittene papilläre Ausknospungen mit teilweise verbreitertem Epithel. Es treten deutliche Größenschwankungen der hyperchromatischen Zellkerne auf.

Das Schleimhautbindegewebe zeigt spärlich lymphozytäres entzündliches Infiltrat.

Autoradiographie:

Die markierten Zellen liegen hauptsächlich in den basalen Zellschichten des Epithels.

LI: 3,30%

Begutachtung:

Papilläres urotheliales Karzinom Grad 2



1mm

U₆: B.A., 48 a, m
LI. 3,84 8

Patient: B.A., 48 Jahre

Präparat: U₆

Histologie:

Dieser Gewebsschnitt besteht aus glatter Muskulatur, die herd- und strangförmig von epithelialem Geschwulstgewebe infiltriert wird. Die Zellkerne weisen deutliche Hyperchromasie und mäßige Polymorphie auf. Man erkennt kleinherdige Nekrosen sowie Zellteilungsfiguren.

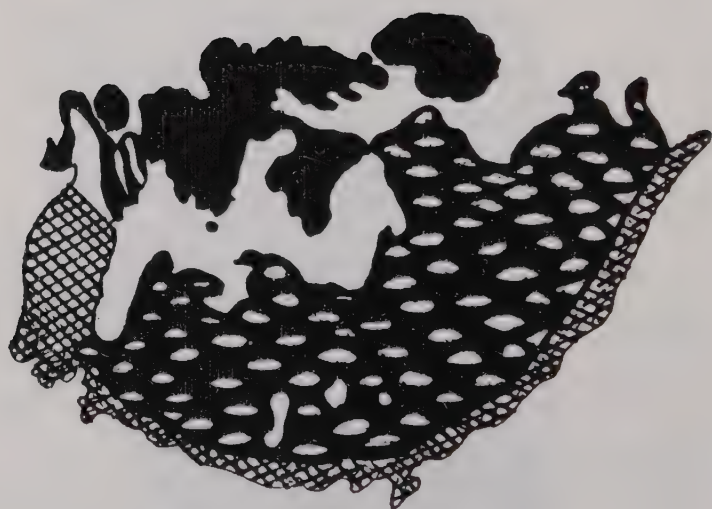
Autoradiographie:

Die unregelmäßig stark markierten Zellen sind diffus im Präparat verteilt.

LI: 3,84%

Begutachtung:

Invasives urotheliales Karzinom Grad 2



U₇: R.W., 72 a, m
LI. 3,56 8

Patient: R.W., 72 Jahre

Präparat: U₇

Histologie:

Der Gewebsschnitt zeigt an der Oberfläche an einigen Stellen gut bis mittel differenzierte papilläre Strukturen mit unterschiedlich breitem atypischen Epithel. Das Geschwulstgewebe greift auch invasiv auf das Schleimhautbindegewebe über und breitet sich zwischen der glatten Muskulatur aus.

Es besteht eine ausgeprägte Kernpolymorphie und Hyperchromasie.

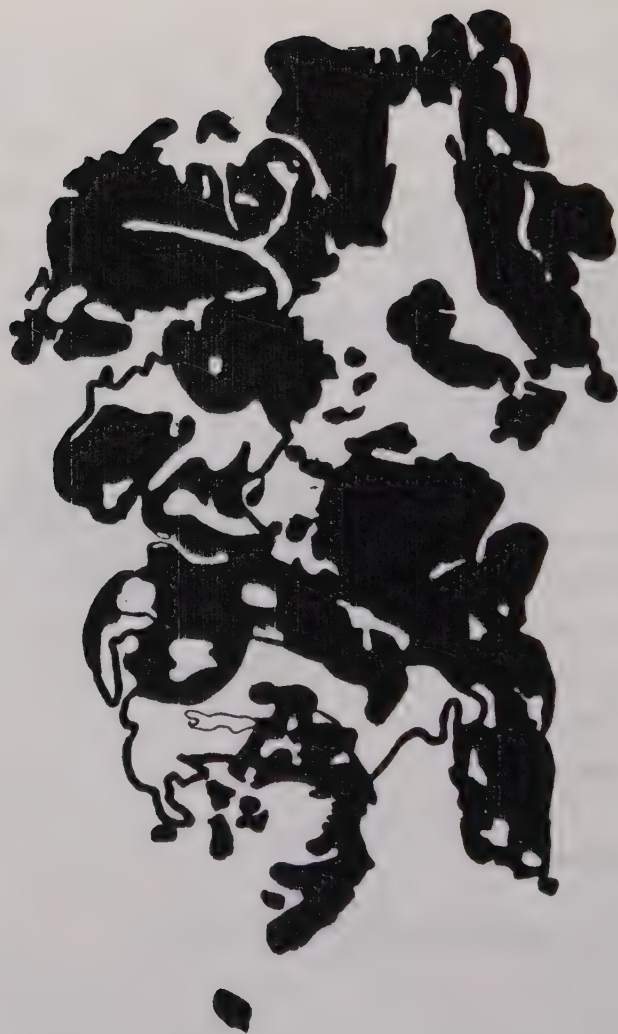
Autoradiographie:

Die insgesamt stark markierten Kerne liegen im papillären Anteil überwiegend basal. In Bereichen, in denen der Tumor die Muskulatur infiltriert, zeigen vor allem Stellen mit stärkerer Kernhyperchromasie markierte Zellen.

LI: 3,56%

Begutachtung:

Invasives urotheliales Karzinom Grad 3



1mm

U8: $\frac{P.E.}{Li.}$ 59 a, m
4,79 %

Patient: F.E., 59 Jahre

Präparat: U₈

Histologie:

Das Präparat zeigt ein grobpapilläres Geschwulstgewebe mit teilweise sehr starker Verbreiterung des atypischen Epithels. Die Zellkerne sind mäßig polymorph und hyperchromatisch. Ein Hinweis auf invasives Wachstum besteht nicht.

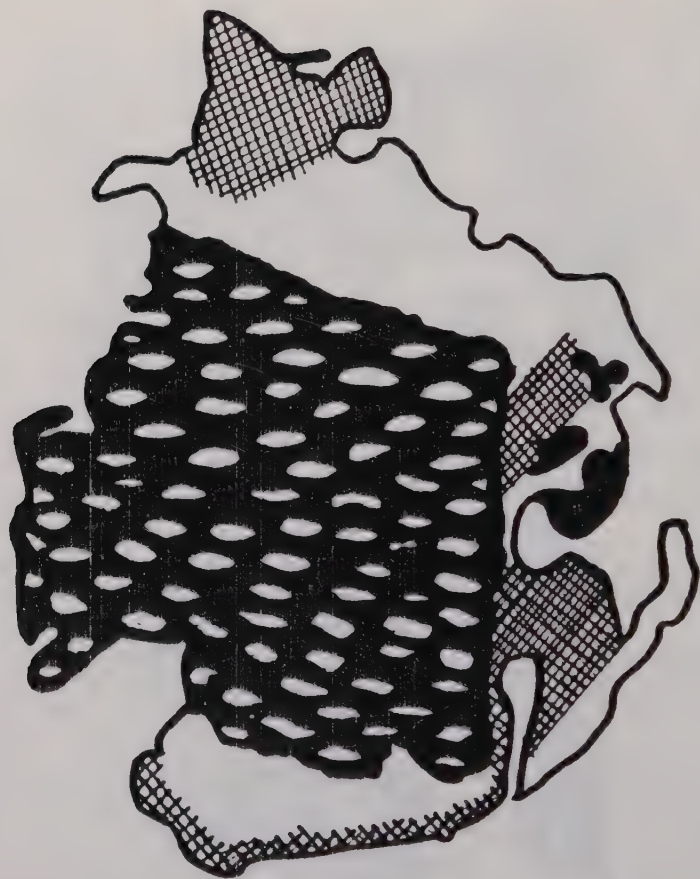
Autoradiographie:

Die markierten Zellen sind auf alle Schichten des Geschwulstgewebes verteilt.

LI: 4,79%

Begutachtung:

Papilläres urotheliales Karzinom Grad 2



1mm

U₁₁: S.A., 62 a, m
 ET. 11.00 g

Patient: S.A., 62 Jahre

Präparat: U₁₁

Histologie:

Dieser Gewebsschnitt zeigt Blasenwand, die weitgehend von einem niedrig differenzierten urothelialen Tumorgewebe infiltriert wird.

Es finden sich Plattenepithelmetaplasien und perlartig angeordnete Zellverbände.

Die Zellkerne sind hyperchromatisch mit deutlicher Polymorphie. Es sind Kernteilungsfiguren und kleinschichtige Nekrosen zu erkennen.

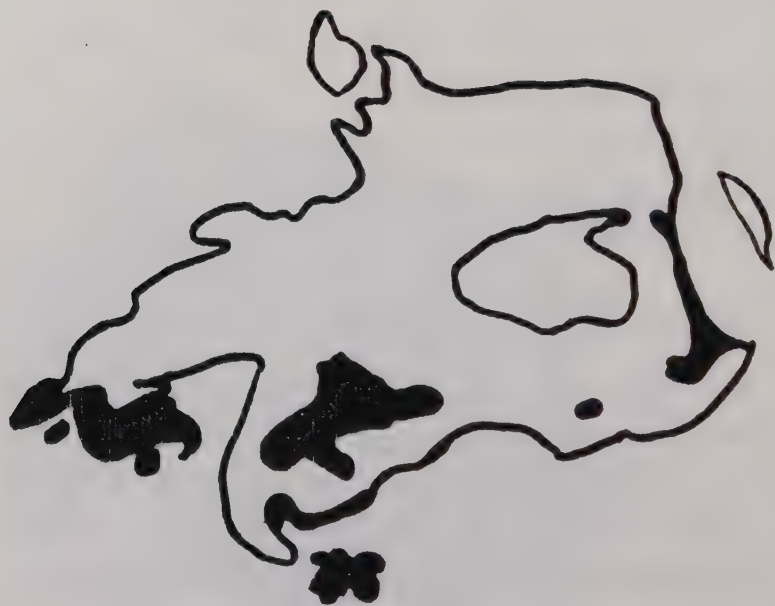
Autoradiographie:

Die ungleichmäßig stark markierten Zellkerne sind in unterschiedlicher Dichte über das gesamte Präparat verteilt. Eine Stelle, die Merkmale eines papillären Karzinoms zeigt, weist eine auffallend starke Markierungsdichte mit einem Index von 22,56% auf (siehe Abbildung Seite 16).

LI: 11,00%

Begutachtung:

Invasives urotheliales Karzinom Grad 3



1mm

U₁₃: S.H., 67 a, w
LI. 3,52 8

Patientin: S.H., 67 Jahre

Präparat: U₁₃

Histologie:

Dieses Präparat zeigt an einigen Stellen der Oberfläche ein papilläres Geschwulstgewebe. Man erkennt sogenannte "von Brunn'sche Zellnester".

Die Zellkerne weisen eine mäßige Hyperchromasie und Polymorphie auf.

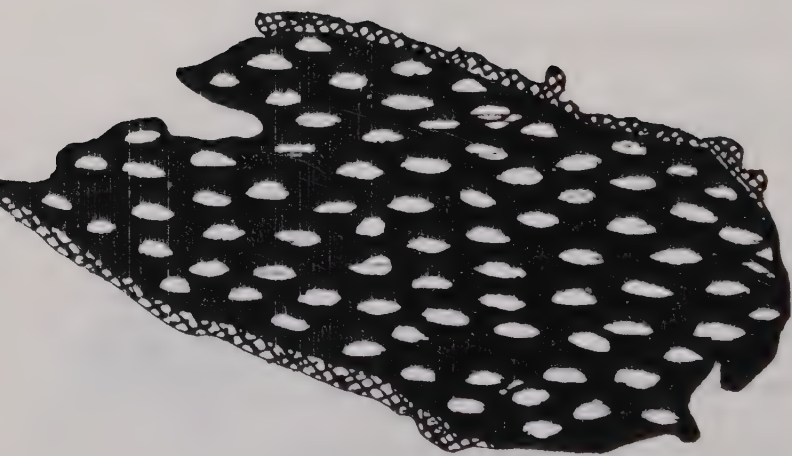
Autoradiographie:

Die durchwegs gut markierten Zellkerne liegen in allen Schichten des atypischen Epithels.

LI: 3,52%

Begutachtung:

Papilläres urotheliales Karzinom Grad 2



1mm

U₁₄: S.H., 64 a, m
VI. 5,69 g

Patient: S.H., 64 Jahre

Präparat: U₁₄

Histologie:

Dieser Gewebsschnitt zeigt glatte Muskulatur, die von einem undifferenzierten epithelialen Tumorgewebe infiltriert wird. Das Geschwulstgewebe tritt in soliden Nestern auf oder schiebt sich säulenartig zwischen die glatte Muskulatur vor.

Die Zellkerne sind deutlich polymorph und hyperchromatisch.

Autoradiographie:

Die markierten Zellen sind diffus verteilt und zeigen kein besonderes Verteilungsmuster.

LI: 5,69%

Begutachtung:

Invasives urotheliales Karzinom Grad 3



1mm

U₁₅: K.A., 74 a, m
LI. 5,26 8

Patient: K.A., 74 Jahre

Präparat: U₁₅

Histologie:

Das gut differenzierte Epithel zeigt eine Zunahme der Zellschichten und weist einige papilläre Ausknospungen auf. Der Übergang zu einem normalen Urothel ist zu erkennen.

In der Mucosa sind mehrere dichte Herde von Überwiegend lymphozytärem Infiltrat eingelagert.

Kerngrößenschwankungen und Hyperchromasie sind gering ausgeprägt.

Autoradiographie:

Die markierten Zellen sind diffus verteilt und kommen in allen Schichten des Epithels vor.

LI: 5,26%

Begutachtung:

Atypische Hyperplasie des Urothels mit Übergang in initiales papilläres Karzinom Grad 1

4. Diskussion

4.1 Normaler Aufbau der Harnblase (Vesica urinaria)

Die Harnblase des Menschen besitzt einen vierschichtigen Aufbau mit Tela mucosa, Tela submucosa, Tunica muscularis und Tunica adventitia (67).

Charakteristisch für die Harnwege (Nierenbecken, Nierenkelche, Harnleiter, Harnblase und proximaler Teil der Harnröhre) ist die Auskleidung durch ein Übergangsepithel (Urothel). Es handelt sich dabei um ein mehrreihiges Epithel mit nicht immer gleicher Schichtstärke, da es sich durch große Anpassungsfähigkeit an den jeweiligen Füllungsgrad der Harnblase auszeichnet. Bis zu maximal sieben Zellschichten im entspannten Zustand, d.h. bei leerer Blase sind als normal anzusehen (38). Das normale Urothel weist überdies große, oft zwei- oder mehrkernige Deckzellen auf, die lumenseitig eine Verdichtung, bestehend aus Glykoproteiden und Mikrofilamenten zeigen. Diese Verdichtung, die Crusta, wird als Schutzschicht gegenüber dem hypertonen, chemisch nicht indifferenten Harn angesehen.

Die Tela submucosa stellt eine gut verschiebliche, gelegentlich auch Fettzellen enthaltende Bindegewebsschicht dar.

Die Tunica muscularis zeigt einen dreischichtigen Aufbau mit innen und außen vorwiegend längs verlaufenden glatten Muskelbündeln und einer mehr ringförmig verlaufenden intermediären Schicht. Die Muskelbündel sind gitterartig miteinander verflochten. Überdies zeichnet sich die Blasenwand durch ein kräftiges Bindegewebsskelett und reichlich elastische Fasern aus. Die Dicke von Schleimhaut und Muskulatur steht etwa im Verhältnis 1 : 20.

Die Tunica adventitia ist die bindegewebige Verbindung zur Umgebung. Das Blasendach und die Hinterwand werden teilweise vom Peritoneum überkleidet. Normalerweise finden sich kleine tubuläre Drüsen im Bereich des Trigonum vesicae (10, 67).

4.2 Ätiologische und epidemiologische Betrachtung des Blasenkarzinoms

Für die Genese des Harnblasenkarzinoms werden eine Reihe exogener und endogener Faktoren verantwortlich gemacht. Bereits 1895 wies L. Rehn auf ein gehäuftes Auftreten von Blasenkarzinomen bei Arbeitern in der Farbenherstellung hin. Auch eine familiäre Prädisposition scheint gegeben zu sein. Verantwortlich gemacht werden als exogene Faktoren vor allem aromatische Amine (z.B. Diphenylamin, β -Naphthylamin) wie sie in der Kabel-, Gummi-, Leder-, Textil-, Farb-

stoff- und chemischen Industrie vorkommen. Die kanzerogenen aromatischen Amine zeichnen sich dadurch aus, daß sie nicht am Ort ihrer primären Aufnahme Tumoren induzieren, sondern gewebsspezifisch an bestimmten Erfolgsorganen (Organotropie) ihre Wirkung entfalten. Diese Karzinome treten mit einer charakteristischen Latenzzeit von 20 bis 30 Jahren auf (13, 22, 31).

Nach Mommsen stellt das Rauchen einen der wichtigsten ätiologischen Faktoren für das Blasenkarzinom dar (43, 68).

Auch Kaffee und Süßstoffe aus Cyclamat und Saccharin werden als etwaige Mitverursacher diskutiert (1, 31). Aus dem vermehrten Auftreten von Abbauprodukten des Tryptophanstoffwechsels im Urin von Patienten mit Blasenkarzinomen schloß man auf einen ursächlichen Zusammenhang (1, 31).

Von Chemotherapeutika, wie sie vor allem in der Tumorbearbeitung Anwendung finden, ist bekannt, daß sie Veränderungen am Urothel hervorrufen können. Das alkylierende Zytostatikum Cyclophosphamid(Endoxan), ein Abkömmling des Kampfgases Stickstoff-Lost, ruft bei manchen Patienten eine hämorrhagische Zystitis hervor; sie geht mit atypischen Zellen im Urinsediment einher, die nur schwer von Tumorzellen zu diskriminieren sind. Busulfan (Myleran), ebenfalls ein alkylierendes Zytostatikum, ruft ähnliche Veränderungen an Urothel und Zellbild hervor (38, 57).

Rübben e.a. (52) konnten zeigen, daß nach zehnmaliger intravesikaler Instillation der zytostatischen Substanzen Adriamycin, Mitomycin, Cis-Platin und Ifosfamid bei weiblichen Wistar-Ratten epitheliale Harnblasentumoren hervorgerufen wurden. Die Kontrollgruppe mit Instillationen von physiologischer Kochsalzlösung war tumorfrei.

Bei chronischen Irritationen und Entzündungen der Blasenschleimhaut werden Plattenepithelmetaplasien und eine erhöhte Karzinomrate beobachtet. So entwickeln 40 bis 80% der Patienten, die aufgrund einer Querschnittslähmung dauerkatheterisiert werden müssen, im Lauf der Jahre Plattenepithelmetaplasien und 5 bis 10% ein Plattenepithelkarzinom. Der Befall mit der Pärchenegelart *Schistosoma hämatobium* (Hauptverbreitungsgebiete: Afrika, Südwestasien, Westküste Indiens), einem Erreger der Bilharziose, führt durch granulomartige Veränderungen, sogenannte Eituberkel in der Harnblase, zu Hämaturien, papillomartigen Bildungen, Nekrosen, Ulcera, Fibrosen, Verkalkungen und ebenfalls zu Plattenepithelmetaplasien (73). Plattenepithelkarzinome bei Schistosomiasis treten 10 bis 20 Jahre früher als in der Vergleichspopulation auf. Die Zahlen in der Literatur über das Auftreten von Karzinomen bei Patienten mit Bilharziose schwanken sehr; die Angaben reichen von 6,6 bis 68% (1, 13, 31, 38).

4.3 Inzidenz, Alters- und Geschlechtsverteilung

Das Blasenkarzinom ist eine Erkrankung vorwiegend des höheren Alters. Die größten Zugangsraten finden sich laut einer Statistik über die DDR(7) in der Altersgruppe der 70- bis 80-jährigen Männer und der 75- bis 85-jährigen Frauen. Auf weniger als 1% belaufen sich die Zugänge in der Altersgruppe der unter 40-jährigen, jedoch auf etwa 70% bei den über 65-jährigen. Bezogen auf die Gesamtbevölkerung beträgt im Beobachtungszeitraum von 1928 - 1972 die Inzidenz 8,3 (Neuzugänge pro 100.000 im Jahresmittel).

Die Inzidenz ist in ländlichen Gebieten und in weniger industrialisierten Ländern niedriger, was mit einer geringeren Schadstoffbelastung erklärt werden könnte. Andererseits wäre dies auch durch eine schlechtere ärztliche Versorgung und Erfassung in diesen Gebieten zu begründen. Im eigenen Patientengut lag das Durchschnittsalter bei 64 Jahren. Die Geschlechtsverteilung wird von Land zu Land und von Bevölkerungsgruppe zu Bevölkerungsgruppe sehr unterschiedlich angegeben. Für Westeuropa liegt die Verteilung Männer zu Frauen etwa bei 3,7 : 1 (5, 6, 7).

In einer vergleichenden Untersuchung von Schubert und Steinert (59), die die Jahre 1927 - 1957 und von 1972 - 1976 umfaßt, verschob sich das Geschlechtsverhältnis Männer zu Frauen von 3,4 : 1 auf 2,6 : 1. Bei

dieser Häufigkeitszunahme für Frauen können Veränderungen bei den Rauchgewohnheiten und eine vermehrte Exposition durch Berufstätigkeit eine Rolle spielen.

4.4 Allgemeine Einteilung der Blasentumoren

99% aller Harnblasentumoren sind primäre Tumoren. Der Rest von 1% verteilt sich auf Geschwülste metastatischen Ursprungs, die hauptsächlich von Mamma-, Magen-, Bronchialkarzinomen und von malignen Melanomen der Haut abstammen, oder ausgehend von Prostata, Colon, Rektum oder weiblichem Genitale in die Blase einwachsen (31).

Über 95% der Tumoren sind epitheliale Neoplasien; sie sind somit die häufigsten Tumoren im gesamten Harntrakt einschließlich der Nieren.

Von den epithelialen Tumoren, welche in drei Gruppen eingeteilt werden, bilden die urothellalen Karzinome (Übergangszellkarzinome) die größte mit ca. 90%.

Entsprechend ihrem Wachstumsverhalten unterscheidet man papilläre Tumoren (ca. 80%) von den primär invasiven (soliden) Urotheltumoren mit allgemein schlechter Prognose. Jedoch können auch papilläre Tumoren, vor allem bei niedrigem Differenzierungsgrad, in ihrem Fortschreiten infiltrierend wachsen; ihre Prognose ist aber dennoch günstiger als beim primär invasiven Urothelkarzinom (44).

Es folgen die Plattenepithelkarzinome (Pflasterzellkarzinome) mit etwa 7% und die Adenokarzinome mit 1 bis 2%. Die einzelnen Karzinome können auch nebeneinander auftreten; so zeigen ungefähr 20% der invasiven Übergangszellkarzinome Bereiche mit Plattenepithelmetaplasien (44, 50).

An benignen und malignen primären nichtepithelialen Tumoren treten auf: Leiomyome, Rhabdomyome, Hämangiome, Lipome, Fibrome, Myxome, Neurinome, Neurofibrome, Phäochromozytome, Leiomyosarkome, Rhabdomyosarkome, embryonale Rhabdomyosarkome (Sarcoma botryoides), maligne Lymphome, Plasmazytome, Osteosarkome, Osteochondrosarkome, maligne mesodermale Mischtumoren, retikuloendotheliale Tumoren (31, 49, 50).

4.5 Klassifikation der epithelialen Harnblasentumoren

Die TNM-Klassifikation, entsprechend den Richtlinien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) von 1973, wurde von der Union Internationale contre le Cancer (UICC) 1979 überarbeitet und neu festgelegt. Sie bezieht sich nur auf epitheliale Tumoren. Diese Neueinteilung soll für zehn Jahre gelten, falls sich keine grundlegend neuen diagnostischen und therapeutischen Kriterien ergeben. Die TNM-Klassifikation von 1987 brachte für die Blasenkarzinome keine Änderungen.

Man unterscheidet das prätherapeutische (TNM) vom posttherapeutischen Staging (pTNM), welchem intraoperative Erkenntnisse und histologische Befunde des Resektionsmaterials zu Grunde liegen.

Neben den TNM-Kriterien, die die Tiefenausdehnung des Tumors, den Lymphknotenbefall und die Fernmetastasierung beschreiben, werden der Grad der Entdifferenzierung G (Grade) und der Einbruch in Lymphbahnen L angegeben.

Falls ein Minimalprogramm an diagnostischen Maßnahmen nicht erfüllt ist oder bestimmte Parameter nicht zu erfassen sind, werden die Symbole TX, NX, MX, GX und LX aufgeführt (15, 31, 53).

T-Einteilung

T0: Kein Nachweis für einen Primärtumor

TIS: Carcinoma in situ (nicht exophytisch oder infiltrativ wachsend)

TA: Tumor auf die Tela mucosa beschränkt

T1: Einbruch in die Lamina propria (Tela submucosa)

T2: Oberflächliche Invasion der Muscularis

T3a: Tiefe Invasion der Muscularis

T3b: Durchbruch der Blasenwand mit Infiltration der Adventitia

T4a: Invasion in Prostata, Uterus und Vagina

T4b: Invasion in Becken- oder Bauchwand

N-Einteilung

- N0: Kein Nachweis für den Befall regionaler Lymphknoten
- N1: Befall eines einzelnen, homolateralen, regionalen Lymphknotens
- N2: Befall kontralateraler oder bilateraler oder multipler regionaler Lymphknoten
- N3: fixierte regionale Lymphknoten
- N4: Befall iuxta regionaler Lymphknoten

M-Einteilung

- M0: Kein Nachweis für Fernmetastasen
- M1a: Nachweis für okkulte Metastasen, gestützt auf biochemische und/oder andere Tests
- M1b: einzelne Metastasen in einem einzelnen Organ
- M1c: multiple Metastasen in einem einzelnen Organ
- M1d: Metastasen in verschiedenen Organen (UICC 1974)

G-Einteilung

- G1: hoher Differenzierungsgrad
- G2: mittlerer Differenzierungsgrad
- G3: niedriger Differenzierungsgrad

In der überarbeiteten Klassifikation von 1979 wurde das gutartige Papillom Grad 0 ausgeschlossen, da die

Unterscheidung vom hoch differenzierten Karzinom G1 kaum möglich ist.

Nach Mostofi entwickeln 17 bis 20% der Patienten mit Papillom ein Karzinom (44). Verschiedene Autoren führen das gutartige Papillom nun unter der Bezeichnung Ta GO (31, 53).

L-Einteilung

L0: kein Befall der Lymphgefäße

L1: Befall oberflächlicher Lymphgefäße

L2: Befall tiefer Lymphgefäße

4.6 Biologie und Pathogenese des Harnblasenkarzinoms

Das normale Epithel der Harnblase ist sehr stabil und zeigt nur eine geringe mitotische Aktivität. Clayson (14) beschreibt bei Mäusen etwa eine Teilungsfrequenz pro 100.000 Zellen.

Der Mitoseindex des normalen menschlichen Urothels liegt nach Hulpap e.a. bei 0,01%.

Autoradiographische Untersuchungen ergeben einen Markierungsindex (LI) von 0,6% (26, 27, 28).

Bei Irritationen des Urothels, sei es durch Infektionen, Überdehnung, mechanische Manipulation (Zystoskopie, Katheterisierung), Blasensteine, Chemotherapeutika oder andere chemische Noxen, zeigt es eine aus-

geprägte Regenerations- bzw. Proliferationstendenz. Anfänglich sind Hyperplasien und damit eine Zunahme der Zellschichten zu beobachten. Von präneoplastischen Veränderungen spricht man jedoch erst, wenn Zellatypien im Urothel hinzutreten. Die Begriffe Atypie und Dysplasie werden synonym gebraucht. Wichtige Kriterien der Atypie sind Kernpolymorphie, Hyperchromasie, Zunahme und Vergrößerung der Nucleoli und Verschiebung der Kern-Plasmarelation zu Gunsten des Kernes. Bei der Einteilung in drei Dysplasie-/Atypiegrade mit geringer (D_1), mittlerer (D_2), und schwerer (D_3) Atypie entspricht das Carcinoma in situ dem Dysplasiegrad D_3 . Die Unterscheidung, ob es sich bei epithelialen Veränderungen um eine gering- bis mittelgradige Dysplasie mit der Tendenz zur malignen Entartung oder nur um einen regenerativen Vorgang handelt, kann oftmals nicht getroffen werden. Die Diagnose der schweren Atypie bzw. des Carcinoma in situ bereitet hingegen keine Schwierigkeiten (40, 42).

Tierexperimentelle Untersuchungen ergaben, daß chemisch induzierte Karzinome über die Zwischenstufen Hyperplasie und Dysplasie oder nur Dysplasie entstehen können (vgl. 42).

Koss e.a. (38) zeigten an in toto histologisch aufgearbeiteten Harnblasen, daß neben den makroskopisch sichtbaren Tumoren häufig alle Ausprägungen eines

veränderten Urothels, von der Hyperplasie über alle Stufen der Dysplasie bis hin zum Carcinoma in situ in derselben Blase nebeneinander auftreten können. Csapó e.a. (16) berichten über die histologische Untersuchung von endoskopisch normal aussehenden Schleimhautarealen bei 122 Blasentumorpatienten. Bei 50,9% der Patienten wurden Epitheldysplasien verschiedener Schweregrade, einschließlich Carcinomata in situ gefunden. Der Schweregrad der Dysplasie korrelierte dabei mit dem Differenzierungsgrad des endoskopisch diagnostizierten Tumors. Mihatsch (12) spricht vom "Eisberg-Phänomen" bei dem der makroskopisch erkennbare Tumor die am weitesten fortgeschrittene Läsion einer mehr oder weniger diffusen karzinogenen Schädigung des gesamten Urothels darstellt. Die hohen Rezidivraten sind sicherlich unter anderem Ausdruck dieses multifokalen, makroskopisch noch nicht erfassbaren Tumorwachstums. In einer Studie von Rübben e.a. (51) mit 315 Patienten rezidierten Primärtumoren in 45% der Fälle. Nach dem ersten Rezidiv sind dann weitere Rezidive bereits in 84% der Fälle zu erwarten. Durch Harnblasenexfoliativzytologien konnten Schmitz e.a. (58) sogenannte okkulte (makroskopisch nicht erkennbare) Blasenkarzinome diagnostizieren, deren histologische Bestätigung erst bis zu maximal 14 Monate später möglich war.

4.7 Räumliches Muster der Zellproliferation

Die Lebensdauer der normalen Epithelzellen ist beschränkt und somit sind die Deckgewebe auf eine Neubildung durch teilungsfähige Zellen angewiesen. Diese physiologische, kontinuierlich ablaufende Regeneration vollzieht sich räumlich geordnet und erfolgt unter normalen Umständen in den basalen Zelllagen mehrschichtiger Epithelien. Beim Plattenepithel der Epidermis ist dies im Stratum germinativum (Stratum basale et Stratum spinosum); beim einschichtigen hochprismatischen Epithel des Gastrointestinaltraktes geschützt in den Foveolae gastricae bzw. in den Darmkrypten. Unter weiterer Ausdifferenzierung gelangen die nachgebildeten Zellen an die Oberfläche, wobei sie die Fähigkeit zur DNS-Synthese und ihre Teilungsfähigkeit verlieren. Bei der physiologischen Zellmauerung befindet sich das Gewebe im "steady state" d.h. die Anzahl der neu gebildeten Zellen entspricht der Zellverlustrate. Die Zellteilungen der verschiedenen Gewebe laufen auch nicht gleichmäßig verteilt über die 24 Stunden des Tages ab, sondern weisen eine gewisse Tagesrhythmik auf. So laufen die meisten Karzykinesen der Epidermis zwischen Mitternacht und vier Uhr morgens ab. Bei nachtaktiven Tieren finden die Mitosen jedoch tagsüber statt. Arbeiten über eine tagesrhythmische Proliferation des menschlichen Urothels scheinen nicht vorzuliegen.

Untersuchungen an Meerschweinchen zeigten, daß durch Überdehnung der Harnblase mittels Instillation von NaCl-Lösung eine leichte Schädigung des Urothels gesetzt wurde. 24 bis 30 Stunden später war eine Welle von Mitosen festzustellen, welche sich auf die basale Zellschicht des Urothels beschränkte (vgl. 14).

In einer autoradiographischen Studie fanden Lunglmayr und Regele (39) bei normalem und entzündlich verändertem Urothel des Menschen die markierten Zellen nur in den basalen Schichten. Bei gutartigen Papillomen waren vereinzelt, bei papillären Karzinomen in stärkerem Maß markierte Zellen auch in den oberen Zellschichten zu beobachten.

Im eigenen Untersuchungsgut traten die markierten Zellen ebenfalls in allen Schichten des Urothels auf. In einigen Präparaten (U_2 , U_5 , U_7) befinden sich die markierten Zellen jedoch vorzugsweise in den basalen und mittleren Schichten des Urothels. Es fällt auf, daß markierte Zellen häufig gruppenweise vorkommen. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen wäre, daß sie als Tochterzellen, abstammend von einer einzigen Karzinomzelle, sich noch teilsynchronisiert im gleichen Stadium des Zellzyklus, also in der S-Phase befanden.

In autoradiographierten Gewebsschnitten zeigt sich bei Inkubation von größeren Gewebssproben, daß die Silberkorndichte in tieferen Schichten progressiv ab-

nimmt und die Markierung in einer gewissen Tiefe schließlich gänzlich sistiert. Lunglmayr und Regele (39) führten dies auf eine nicht mehr ausreichende Diffusion von ^3H -Thymin zurück. Nach Steel und Bensted (63) ist der hauptsächlich limitierende Faktor, jedoch nicht die ^3H -Thyminpenetration, sondern die Gewebsanoxie in tieferen Schichten, so daß bei normobarer Inkubation die ^3H -TdR-Inkorporation in einer Tiefe von etwa 150 μm zum Erliegen kommt. Durch die Anwendung höherer Sauerstoffdrucke während der Inkubation nimmt die Markierungstiefe zu und ermöglicht somit eine bessere Beurteilung des Markierungsmusters (24, 47). Durch das Vorschneiden der Gewebeproben zu Scheibchen mit 360 μm Dicke und der Inkubation unter 2,5 atü Sauerstoff konnte im eigenen Untersuchungsmaterial ein Abfall der Markierungs- oder Silberkorn-dichte vermieden werden. Diese Inkubationsmethode wurde bereits in früheren autoradiographischen Studien des Instituts mit Erfolg angewendet (62, 71).

4.8 Zellkinetik

Proliferationsstudien an Tumoren haben gezeigt, daß Tumorzellpopulationen in drei unterschiedliche zellkinetische Compartments aufgeteilt werden können (15). Eine schematische Darstellung hierzu findet sich auf Seite 53.

Im einzelnen sind dies:

- a) Zellen, die ihre Teilungsfähigkeit verloren haben und nach einer bestimmten Zeit zu Grunde gehen.
- b) Zellen, die sich in einem Ruhezustand befinden (G_0 -Phase) und nicht die zyklischen Zellteilungen vollziehen, jedoch jederzeit wieder in das proliferierende Compartment eintreten könne. Es ist bekannt, daß Zellen der G_0 -Phase durch viele Chemotherapeutika kaum zu beeinflussen sind. Ihre Resistenz gegenüber ionisierenden Strahlen ist noch umstritten. Nach einer Strahlen- oder Chemotherapie können diese G_0 -Zellen durch Wiederaufnahme der Zellteilungen den Ausgangspunkt für ein Rezidiv bilden.
- c) Zellen, die proliferieren und zyklisch Zellteilungen ausführen und als sogenannte "growth fraction" bezeichnet werden.

Während der G_1 -Phase, welche zeitlich die größte Variabilität ausweist, liegt bei normalen Zellen und auch bei euploiden Karzinomen der diploide Chromosomensatz vor.

In der folgenden Synthesephase (S-Phase) wird durch die DNS-Replikation der Chromosomensatz verdoppelt und die Zelle ist somit tetraploid.

Proliferierendes Compartment(c)

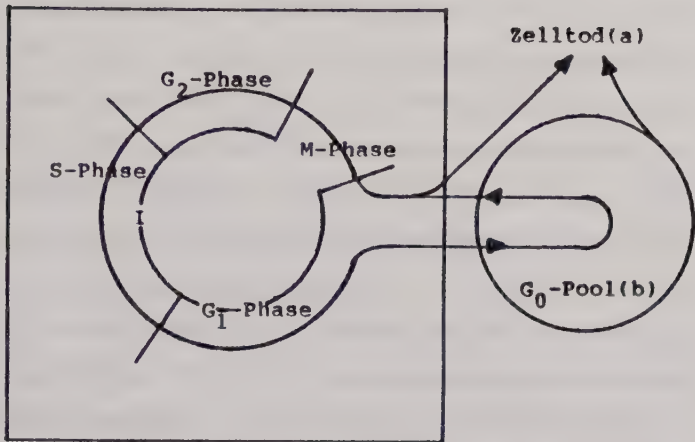


Abbildung 1: Zellcompartments und Zellzyklus;
I = Interphase

Flowcytometrische Analysen von Blasenkarzinomen durch Tribukait e.a. (69) und Chin e.a. (12) demonstrieren jedoch, daß mit zunehmender Entdifferenzierung die Zellen mit abweichendem Chromosomensatz stark zunehmen. Bei Tribukait waren 11% der G1- (N=9), 33% der G2- (N=42) und 96% der G3- Karzinome (N=49) aneuploid.

Bei Chin waren alle G1-Tumoren (N=14) euploid, 30% der G2- (N=33) und 76,9% der G3-Tumoren (N=52) aneuploid. Carcinomata in situ (N=11) waren bei beiden Autoren aneuploid.

Die Dauer der S-Phase wird in der Literatur zwischen sechs und 34 Stunden angegeben. In dieser Phase wird durch die in vitro Inkubation ^3H -Thymidin als Nukleinsäurebaustein in die DNA der Zelle inkorporiert. Nach der G2-Phase mit 2 - 5 Stunden folgt die etwa einstündige Mitosephase. Die Dauer der S-, G2- und M-Phase werden als ziemlich konstant angegeben (2, 10). Wie autoradiographische Untersuchungen aufweisen, treten mit der Malignisierung mehr Zellen in die S-Phase ein. Gleichzeitig behalten auch mehr Zellen ihre Teilungsfähigkeit, wie es das Auftreten von markierten Zellen in den mittleren und oberen Schichten des Urothels zeigt. Das Gewebe befindet sich nicht mehr im Gleichgewicht (steady state), die Zellneubildungsrate übersteigt den Zellverlust folglich nimmt die Tumormasse zu.

4.9 Differenzierungsgrad und Markierungsindex

Für das Blasenkarzinom liegen autoradiographische Untersuchungen nur in beschränktem Umfang vor.

Die mitgeteilten Markierungsindices (LI) weisen ebenso wie des eigenen Untersuchungsguts eine große Schwankungsbreite auf. Eine Abhängigkeit des Markierungsindex vom Differenzierungsgrad zeigt sich deutlich, wenn auch ein direkter zahlenmäßiger Vergleich

in manchen Fällen mit Schwierigkeiten verbunden ist, da eine Reihe von Untersuchungen im Grading nicht den Richtlinien der WHO und der UICC folgt oder vor deren Festlegung durchgeführt wurde. Teilweise erfolgte die Inkubation ohne zusätzliche Maßnahmen zur Verbesserung der O_2 -Spannung oder mit Inkubationsmedien höherer Aktivität oder über einen längeren Zeitraum. Die am besten vergleichbaren Arbeiten sind in Tabelle 2 auf Seite 56 zusammengefaßt.

Eine autoradiographische Untersuchung von Hainau und Dombernowsky (24), die im histopathologischen Grading der Einteilung von Bergkvist (3) folgt (G0 - G4), wurde ohne erhöhten Sauerstoffdruck mit einer Inkubationsdauer von vier Stunden durchgeführt. Es wurden dabei sehr hohe Markierungsindices, vor allem bei papillären G3- und invasiven (soliden) G4-Tumoren beobachtet (siehe Tabelle 3, Seite 59). Die Inkubation ohne zusätzliche Sauerstoffgabe macht sich wahrscheinlich deshalb nicht bemerkbar, da bei der Auszählung nur Bereiche mit stark markierten Zellkernen berücksichtigt wurden und so Abschnitte mit ungenügender Sauerstoffversorgung und folglich niedrigerem LI ausgespart blieben. Die vergleichsweise lange Inkubationszeit von vier Stunden trägt möglicherweise mit zu dem hohen Markierungsindex bei. Mittels standardisierter in vitro Systeme wies Rajewsky (47) an Rattenleberexplantaten und an anderen Geweben nach,

	Dlhoš (17)	Helpap (26, 26)	Sufrin (66)	eigenes Untersuchungsgut
normale Schleimhaut	1,5 -	0,6 (0-1,5)	0,13±0,037 (0-0,4)	- -
G1	9,0 -	5,3±4,9 (0,6-14,1)	3,4±0,56 (0,8-5,9)	5,26 -
G2	17,0 -	19,3±8,9 (3,6-31,5)	8,2±2,9 (0,7-26,1)	3,95±0,6 (3,3-4,8)
G3	26,0 -	26,2±6,5 (14,8-36,3)	18,0±2,1 (1,0-32,5)	9,61±6,5 (3,6-18,2)
spezifische Aktivität in Ci/mMol in Bq/mMol	20 7,4x10 ¹¹	20 7,4x10 ¹¹	60 2,22x10 ¹²	2-5 7,4x10 ¹⁰ -1,85x10 ¹¹

Tabelle 2: Markierungsindices (in 8) verschiedener Studien; Inkubationsdauer jeweils 120 Minuten unter hyperbarem Sauerstoff; In Klammern: Schwankungsbreite

daß die Markierung nicht linear mit der Inkubationsdauer zunimmt. Nach 70 Minuten sind annähernd die Hälfte, nach 150 Minuten etwa 80% und nach 240 Minuten etwa 90% der in S-Phase befindlichen Zellen mit ^3H -Thymidin markiert und im weiteren Verlauf strebt die Markierung einer Sättigung zu.

Im eigenen Untersuchungsgut liegt im Vergleich zu den G2-Tumoren der Markierungsindex des einzigen Präparates (U_{15}) mit dem Differenzierungsgrad G1 mit 5,26% sehr hoch. Zwar können mit einem Präparat nur mit Einschränkungen Aussagen gemacht werden, jedoch ist dieser relativ hohe LI gegebenenfalls auf eine gesteigerte Malignität zurückzuführen, zumal dieser G1-Tumor von einem Patienten stammt, bei dem bereits mehrmals transurethral Karzinome höheren Malignitätsgrades reseziert wurden.

Der Markierungsindex der G2-Karzinome ($N = 5$) liegt mit 3,95% etwas niedriger, bewegt sich aber innerhalb der Schwankungsbreite anderer Autoren, die von 0,7 bis 31,5% reicht.

Für die G3-Tumoren ($N = 4$) ergab sich ein Index von 9,61%, wobei die Indices in der Literatur zwischen 1,0 und 36,3% liegen. Sehr hohe Werte sind möglicherweise auf die Selektion von gut markierten Präparaten und die Auswertung von stärker markierten Stellen zurückzuführen.

4.10 Potentielle Verdoppelungszeit

Mit der Ermittlung des Markierungsindex ergibt sich bei einer gegebenen oder angenommenen Dauer der S-Phase (T_S) die Möglichkeit die potentielle Verdoppelungszeit (T_{PD}) als wichtige Kenngröße der Zellproliferation im malignen Gewebe näherungsweise abzuschätzen. Die T_{PD} ist die Zeit, in der eine Ausgangspopulation bei gleichbleibender Proliferationsrate ihre Größe verdoppeln würde. Da die Zellverlustrate unberücksichtigt bleibt, spricht man daher von der "potentiellen" Verdoppelungszeit.

Mit folgender Gleichung von Steel (63) läßt sich T_{PD} bestimmen:

$$T_{PD} = \lambda \times \frac{T_S}{LI}$$

λ ist ein Korrekturfaktor, der die Altersverteilung der Population und damit die Lage und relative Zelldichte der S-Phase berücksichtigt. In einer Zellpopulation im steady state mit rechteckiger Altersverteilung ist $\lambda = 1$. Da sich jedoch Tumoren gewöhnlich nicht im steady state befinden, empfiehlt Steel für $\lambda = 0,8$. Dieser Wert trifft für einen relativ großen Bereich von Verdoppelungszeiten zu, wobei sich ein Fehler von $\pm 10\%$ ergeben kann.

Für die Dauer der Synthesephase (T_S) finden sich in der Literatur Werte zwischen 6 und 37 Stunden (2, 10, 15, 26, 54).

Hainau und Dombernowsky (24) verwenden bei Blasenkarzinomen zur Berechnung der T_{PD} eine mittlere T_S von 15 Stunden. Dabei ergeben sich für Karzinome Verdopplungszeiten von 2,1 bis 13,9 Tagen und für das normale Urothel 520 Tage. Zur Berechnung der T_{PD} des normalen Urothels beträgt $\lambda = 1$ (siehe Tabelle 3, Seite 59).

papilläre Karzinome	G1	G2	G3	G4
LI	3,6	6,9	21,6	--
SB	0,1-8,2	3,1-10,1	7,0-44,0	--
T_{PD}	13,9	7,2	2,3	--
invasive Karzinome				
LI	--	--	17,4	24,2
SB	--	--	10,1-32,9	3,6-42,0
T_{PD}	--	--	2,9	2,1

Tabelle 3:

Autoradiographische Studie (Auszug) von Hainau und Dombernowsky; Inkubationsdauer 240 min ohne zusätzlich 2 0; Spezifische Aktivität des Mediums 26 Ci/mMol ($9,62 \times 10^{11}$ Bq). LI = Markierungsindex; SB = Schwan-
kungsbreite; T_{PD} = potentielle Verdopplungszeit.

Helpap e.a. (25, 26) bestimmten über ein Doppelmarkierungsverfahren mit ^3H -TdR und ^{14}C -TdR die S-Phasendauer der verschiedenen Differenzierungsgrade von Übergangszellkarzinomen. Durchschnittlich ergibt sich für G1-, G2- und G3-Tumoren eine Abnahme der Synthesedauer von 17,8 über 14,7 auf 13,9 Stunden.

Aus dem eigenen Untersuchungsgut errechnen sich bei einem λ von 0,8 und unter Verwendung der T_S -Daten von Helpap e.a. (26) folgende Tumorverdoppelungszeiten:

T_{PD} für G1 = 11,3 Tage

T_{PD} für G2 = 12,4 Tage

T_{PD} für G3 = 4,8 Tage.

Die potentielle Verdoppelungszeit ist ein Maß, das Schlüsse auf das Proliferationspotential von Zellpopulationen zuläßt. Klinische Erfahrungen zeigen, daß die wirkliche Verdoppelungszeit menschlicher Tumoren wesentlich länger dauert. Diese Diskrepanz postuliert eine Zellverlustrate, die entsprechend den Gegebenheiten des einzelnen Tumors sehr unterschiedlich sein kann. Zellverluste sind vor allem zurückzuführen auf Abschlüfferung, lymphogene und hämatogene Abschwemmung, Nekrosen durch Anoxie, Substratmangel oder inhärente Differenzierungsneigung, Zytolyse durch immunologische Vorgänge, Zelltod durch enzymatische oder

metabolische Defekte und Defekte bei Mitosen wie sie besonders bei aneuploiden Zellen auftreten können (23).

4.11 Therapeutischer Ausblick

Bei einer kurativen chirurgischen Intervention zur Behandlung von Malignomen wird entweder das tumortragende Organ in toto oder der befallene Teil eines Organs im Gesunden reseziert.

Im Falle des Harnblasenkarzinoms versucht man das betroffene Organ möglichst zu erhalten, um dem Patienten die weitreichenden Folgen einer Zystektomie zu ersparen.

Die transurethrale Elektroresektion (TUR) ist immer noch die tragende Säule der Therapie des Blasenkarzinoms. Angestrebt wird natürlich immer die Resektion im Gesunden, was auch in mehreren Sitzungen erreicht werden kann. Vor allem bei oberflächlichen Tumoren ist die TUR die Methode der Wahl (8, 31, 51); sie gibt dem Patienten bei einer strengen tumoradaptierten Resektionsstrategie eine gute Aussicht auf dauerhafte Heilung. Im Hinblick auf die Rezidivhäufigkeit wird nach der Therapie eine engmaschige Nachkontrolle durchgeführt.

Bichler e.a.(8) berichtet über 146 Patienten, bei denen die 3-Jahresüberlebensrate im Stadium TA bei 96%,

für T1 bei 70%, für T2 bei 54% und für T3 bei 48% lag.

Die präoperative Strahlentherapie ist ein gebräuchliches Behandlungsverfahren. Mit ihr kann in vielen Fällen eine Tumorreduktion (down staging) erreicht und die Überlebensraten signifikant erhöht werden. Als Alternative zur Zystektomie bei Rezidiven und als Rezidivprophylaxe bei Tumoren mit hohem Malignitätsgrad G3 bietet sich ebenfalls die Strahlentherapie an (7, 72).

Die Zystektomie wird erwogen, wenn sich Tumoren mittels der TUR nicht beherrschen lassen, Tumoren mit niedrigem Differenzierungsgrad multifokal auftreten, Tumoren tief infiltrierend wachsen (Stadium T3, T4) und bei nichtansprechender Radiotherapie. Durch lokale Zytostatikaapplikation konnte bei einem Teil der Patienten das CIS günstig beeinflusst, oder die Rezidivrate nach Resektion gesenkt werden (18, 20, 21).

Ein neueres Therapieverfahren ist die transurethrale Anwendung des Neodym-YAG-Lasers (29, 30). Er erlaubt die berührungsfreie Zerstörung von Tumorgewebe, wobei kaum Blutungen auftreten und bei sehr guten Sichtverhältnissen die Behandlungsdauer ziemlich kurz gehalten werden kann.

In einer Studie von Hofstetter (30) mit 66 Blasen-tumorpatienten der Stadien pT₁ bis pT₂, N₀, M₀ zeigte sich die Lasertherapie der Elektroresektion überlegen.

Durch die Weiterentwicklung des Laserinstrumentariums konnten Schilling und Böwering (56) selbst Tumoren der Ureteren mit beeindruckendem Erfolg behandeln. Die Entwicklung der integralen photodynamischen Therapie (34, 35) könnte künftig für multifokal wachsende Karzinome und das prognostisch ungünstige CIS eine bessere Möglichkeit der Behandlung bieten. Bei diesem Verfahren führt ein i.v. verabreichtes Hämatoporphyrinderivat (HPD) zu einer tumorselektiven Photosensibilisierung. Über ein in die Harnblase instilliertes Lichtstreumedium können dann die HPD speichernden Tumoren durch die Bestrahlung mit Rotlicht bestimmter Wellenlänge aus einer Laserquelle zerstört werden. Die beste Voraussetzung für eine kurative Therapie und die Aussicht auf eine völlige Heilung ist nach wie vor die Früherkennung. Die zytologische Untersuchung von Spontanurin oder von Harnblasenspülflüssigkeit ist eine einfache, beliebig oft wiederholbare und den Patienten nicht belastende Methode zur Verlaufskontrolle und zur Diagnostik. Sie ist auch als Screeninguntersuchung geeignet und kann einen guten Beitrag zur Früherkennung von Urothelveränderungen in Klinik und Praxis leisten (9, 33, 48, 61).

5. Zusammenfassung

Das Untersuchungsmaterial wurde durch Biopsien oder durch transurethrale Resektionen gewonnen und anschließend in vitro mit ^3H -Thymidin bei 2,5 atü O_2 inkubiert. Nach der histologischen Aufarbeitung wurden die Präparate autoradiographiert und gefärbt. Zur Auswertung kamen ein Harnblasenkarzinom mit dem Differenzierungsgrad G1, fünf mit G2 und vier mit G3. Markierte Zellen waren in allen Schichten der Urothels zu beobachten. In der gesunden Schleimhaut treten wenig Mitosen auf.

Der LI lag für den G1-Tumor bei 5,26. Die Mittelwerte des LI für die G2-Tumoren lagen bei 3,95 (Streubreite 3,3-4,79) und für G3-Tumoren bei 9,61 (Streubreite 3,56-18,19).

Eine Abhängigkeit des LI vom Differenzierungsgrad wird ersichtlich.

Die potentielle Verdoppelungszeit, ein Maß für die Proliferationstendenz, liegt für das G1-Karzinom bei 11,3, für die G2-Karzinome bei 12,8 und für die G3-Karzinome bei 4,8 Tagen.

Mit zunehmender Entdifferenzierung und zunehmender Infiltrationstiefe des Tumors steigt der LI an und nimmt die T_{PD} ab.

6. Literaturverzeichnis

1. Adolphs H.-D., Thiele J. und Vahlensieck W.: Epidemiologie und Pathogenese des Harnblasenkarzinoms.
Onkologie 5: 214-224 (1980)
2. Bachmann K.: Biologie für Mediziner.
Springer Verlag Berlin Heidelberg New York (1976)
3. Bergkvist A., Ljungqvist A. und Moberger G.: Classification of bladder tumours based on the cellular pattern.
Acta Chir. Scand. 130: 371-378 (1965)
4. Berndt H. und Berndt R.: Inzidenz und Mortalität an bösartigen Neubildungen der Harnorgane.
Z. ärztl. Fortbild. 74, 1171-1175 (1980)
5. Berndt H. und Berndt R.: Inzidenz und Mortalität an bösartigen Neubildungen der Harnorgane und männlichen Geschlechtsorgane in der DDR.
Urologe(A) 21: 185-189 (1982)
6. Berndt H., Berndt R., Brunz K.H., Gemperle I., Hansche G., Hansche R., Hünnerbein Ch., Weber H.G., Weber S. und Witt K.: Blasenkrebs und Alter.
Z. Urol. u. Nephrol., Bd. 73, 123-136 (1980)
7. Besserer A. und Ernst H.: Die Strahlentherapie der Harnblasenkarzinome.
Urologe(A) 25: 12-17 (1986)
8. Bichler K.-H., Harzmann R., Flächter St.H. und Erdmann W.: Fortschritte der transurethralen Elektresektion des Harnblasenkarzinoms.
Urologe(A) 21: 3-8 (1982)
9. Bödeker J. und Helpap B.: Die Wertigkeit der Harnblasenspülzytologie bei der Abklärung einer Mikrohämaturie.
Helv. chir. Acta 52, 463-466 (1985)

10. Bucher O.: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Verlag Hans Huber Bern Stuttgart Wien
(1977)
11. Burk K., Troller R.M. und Pittner P.: Rezidivprophylaxe bei oberflächlichen Harnblasenkarzinomen.
Urologe(A) 22: 332-336 (1983)
12. Chin L.J., Huben R.P., Nava E., Rustum Y.M., Greco J.M., Pontes J.E. und Frankfurt O.S.: Flow Cytometric Analysis of DNA Content in Human Bladder Tumours and Irrigation Fluids.
Cancer 56: 1677-1681 (1985)
13. Clayson D.B.: Epidemiology of bladder cancer. Aus "Biology and Clinical Management of Bladder Cancer". Hrsg. Cooper E.H. und Williams R.E.
Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne 65-86 (1975)
14. Clayson D.B.: Experimental studies in urothelial cancer. Aus "The Biology and Clinical Management of Bladder Cancer". Hrsg. Cooper E.H. und Williams R.E.
Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne 1-35 (1975)
15. Cooper E.H.: Biology of human bladder cancer. Aus "The Biology and Clinical Management of Bladder Cancer". Hrsg. Cooper E.H. und Williams R.E.
Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne 37-64 (1975)
16. Csapó Z., Kolozsy Z., Dauda Gy. und Mohácsi L.: Dysplastische Urothelveränderungen bei Blasentumorponten.
Urologe(A) 23: 281-284 (1984)
17. Dlhóš A., Lennartz K.J., Heising J., Kaiser Ch. und Engelking R.: Zur Zellkinetik von Urotheltumoren.
Urologe(A) 18: 112-114 (1979)
18. Edsmyr F., Anderson L. und Esposti P.L.: Adriamycin-Instillationen bei Carcinoma in situ der Harnblase.
Urologe(A) 22: 337-341 (1983)

19. Ek A., Hellsten S., Henrikson H., Idwall I., Lindholm C.-E., Lindholm K., Mikulowski P. und Mansson W.: Intravesical Adriamycin Therapy in Carcinoma in Situ in the Urinary Bladder.
Scand J Urol Nephrol 18: 131-134 (1984)
20. Flanigan R.C., Ellison M.F., Butler K.M., Gomella L.G. und Mc Roberts J.W.: A Trial of Prophylactic Thiotepa or Mitomycin C Intravesical Therapy in Patients with Recurrent or Multiple Superficial Bladder Cancers.
J Urol 136: 35-37 (1986)
21. Flüchter St.H., Harzmann R., Hlobil H., Erdmann W. und Bichler K.-H.: Lokale Chemotherapie des Harnblasenkarzinoms mit Mitomycin.
Urologe(A) 21: 24-28 (1982)
22. Forth W., Henschler D. und Rummel W.: Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliographisches Institut Mannheim Wien Zürich; B.I. Wissenschaftsverlag (1980)
23. Fulker M.J., Cooper E.H. und Tanaka T.: Proliferation and Ultrastructure of Papillary Transitional Cell Carcinoma of the Human Bladder.
Cancer 27: 71-82 (1971)
24. Hainau B. und Dombernowsky P.: Histology and Cell Proliferation in Human Bladder Tumours.
Cancer 33: 115-126 (1974)
25. Helpap B.: Aussagekraft der Zellkinetik beim Tumorggrading.
MD-GBK Nr. 41: 13-15 (1983)
26. Helpap B., Schwabe H.W. und Adolphs H.-D.: Proliferative Pattern of Urothelial Bladder Cancer and Urothelial Atypias.
J Cancer Res Clin Oncol 109: 46-54 (1985)
27. Helpap B., Vogel J., Oehr P. und Adolphs H.-D.: Comparison between Cell Kinetic and Immunohistochemical Studies on Carcinoma and Atypia/Dysplasia of Urinary Bladder Mucosa.
Virchows Arch (Pathol Anat) 406: 309-322 (1985)

28. Helpap B., Vogel J., Oehr P. und Adolphs H.-D.:
Proliferationskinetische und immunhisto-
chemische Untersuchungen an urothelialen
Atypien/Dysplasien und Karzinomen.
Helv. chir. Acta 52: 451-454 (1985)
29. Hofstetter A.: Laser - Science Fiction oder eine
neue Dimension in der Medizin.
Urologe(A) 24: 310-312 (1985)
30. Hofstetter A., Schmiedt E. und Staehler G.: En-
dovesikale Zerstörung von Blasentumoren
mit dem Neodym-YAG-Laser.
Urologe(A) 21: 9-11 (1982)
31. Hohenfellner R. und Zingg E.J.: Urologie in Kli-
nik und Praxis Bd. I
Georg Thieme Verlag Stuttgart; 2. Auflage
(1982)
32. Jacobsen F., Møller-Nielsen C. und Mommsen S.:
Flat Intraepithelial Carcinoma in Situ of
the Urinary Bladder.
Scand J Urol Nephrol 19: 253-255 (1985)
33. Jocham D., Göttinger H. und Schmiedt E.: Stel-
lenwert der Urinzytologie in der urologi-
schen Diagnostik.
Urologe(A) 21: 79-83 (1982)
34. Jocham D., Staehler D., Baumgartner R. und Un-
söld E.: Die integrale photodynamische
Therapie beim multifokalen Blasenkarzinom.
Urologe(A) 24: 316-319 (1985)
35. Jocham D., Staehler G., Chaussy Ch., Löhrs U.
und Unsöld E.: Experimentelle und erste
klinische Erfahrungen mit der integralen
Photoradiotherapie des multifokalen Bla-
senkarzinoms und des Carcinoma in situ
nach tumorselektiver Photosensibilisierung
mit Hämatoporphyrin-Derivat.
Helv. chir. Acta 52, 469-472 (1985)
36. Kolle P. und Aeikens B.: Möglichkeiten und An-
satzpunkte einer meistechnischen zytologi-
schen Auswertung von Urothelzellen zur
Krebsdiagnostik mit Hilfe mikroskopischer
Verfahren und digitaler Bildverarbeitung.
Urologe(A) 24: 301-304 (1985)

37. Koss L.G.: Cytology in the diagnosis of bladder cancer. Aus "The Biology and Clinical Management of Bladder Cancer". Hrsg. Cooper E.H. und Williams R.E. Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne 111-139 (1975)
38. Koss L.G.: Tumours of the Urinary Bladder. Armed Forces Institute of Pathology Washington (1975)
39. Lunglmayr G. und Regele H.: Autoradiographische Untersuchungen zur Proliferation von papillären Tumoren der Harnblase. Der Urologe 8: 67-69 (1969)
40. Maier U. und Holzner J.H.: Stellenwert der Urotheldysplasie im Rahmen des Blasenmappings. Helv. chir. Acta 52: 459-462 (1985)
41. Matz M.: Zum gegenwärtigen Stand der Diagnostik und Therapie des Harnblasenkarzinoms. Z. ärztl. Fortbild. 76: 815-821 (1982)
42. Mihatsch M.J.: Dysplasie und Carcinoma in situ des Urothels. Helv. chir. Acta 52: 435-466 (1985)
43. Mommsen S., Aagaard J. und Sell A.: An Epidemiological Study of Bladder Cancer in a Predominantly Rural District Scand J Urol Nephrol 17: 307-312 (1983)
44. Mostofi F.K.: Pathology of malignant tumours of urinary bladder. Aus "The Biology and Clinical Management of Bladder Cancer" Hrsg. Cooper E.H. und Williams R.E. Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne 87-109 (1975)
45. Neagu V., Lazar C., Mares V., Pop T. und Ioanid P.Cl.: Studies on Growth of Human Bladder Tumours. The Relationship Between the Proliferative Cell Population, the Chromosome Pattern and Histologie. Neoplasma 26: 195-200 (1979)
46. Noronha R.F.X., Goodall C.M., Beagley K.W., Stephens O.B. und Horne L.: Correlation of Human Bladder Tumor Recurrence with Changes in Clonogenicity of Urothelial Cells. Cancer 56: 1574-1577 (1985)

47. Rajewsky M.F.: In vitro Studies of Cell Proliferation in Tumours - II
Europ. J. Cancer 1: 281-287 (1965)
48. Rathert P. und Preiss H.: Urinzytologie in der urologischen Praxis
Urologe(A) 21: 67-72 (1982)
49. Reuter H.J.: Tumoren von Harnröhre und Harnblase. Aus "Atlas der urologischen Endoskopie"
Bd. 2; 2. Aufl.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1984)
50. Robbins S.L.: Pathologic Basis of Disease.
W.B. Saunders Company Philadelphia-London-Toronto (1974)
51. Rübben H., Dahm H.H. und Lutzeyer W.: Rezidivhäufigkeit und Tumorprogression superficialer Harnblasenkarzinome.
Urologe(A) 20: 211-214 (1981)
52. Rübben H., Dahm H.H. und Lutzeyer W.: Wirkung zytostatischer Substanzen auf das gesunde Urothel nach intravesikaler Instillation.
Urologe(A) 21: 116-117 (1982)
53. Rübben H., Dahm H.H., v.Uelft W. und Lutzeyer W.: TNM-Klassifikation maligner Blasentumoren UICC 1979. Arbeitsgrundlage "Register und Verbundstudie für Harnwegtumoren RWTH Aachen".
Urologe(A) 18: 238-246 (1979)
54. Sasaki K., Takahashi M., Ogino T. und Yasui H.: In Vitro Estimation of Cell Kinetic Parameters in Human Urinary Bladder Cancers.
Gann 72: 795-797 (1981)
55. Schauer A., Kunze E., Krüsmann G. und Spielmann J.: Vergleichende enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen über das biologische Verhalten menschlicher und tierischer Harnblasentumoren.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path., 55. Tagung 577-582 (1971)
56. Schilling A. und Böwering R.: Behandlung von oberflächlichen Harnleitertumoren mit dem Neodym-YAG-Laser.
Urologe(A) 24: 313-315 (1985)

57. Schmähli D., Habs M. und Tacchi A.M.: Prophylaxe der Tumorentstehung in der Harnblase durch Natrium-2-mercaptoethansulfonat (Mesna).
Urologe(A) 23: 291-296 (1984)
58. Schmitz A., Meyer U., Kierfeld G. und Röchemann K.: Stellenwert der Harnblasenexfoliationszytologie beim okkulten Blasenkarzinom und bei der Verlaufskontrolle behandelter Karzinome.
Urologe(A) 23: 278-280 (1984)
59. Schubert G.E. und Steinert M.: Das Harnblasenkarzinom im Biopsiegut der vergangenen 50 Jahre.
Urologe(A) 17: 361-366 (1978)
60. Schüller J., Walther V., Staehler G. und Bauer H.-W.: Beurteilung von Blasenwandveränderungen mit der intravesikalen Ultraschalltomographie.
Urologe(A) 20: 204-210 (1981)
61. Shenoy U.A., Colby T.V. und Schumann G.B.: Reliability of Urinary Cytodiagnosis in Urothelial Neoplasms.
Cancer 56: 2041-2045 (1985)
62. Stahl C.: Proliferationsmuster in Tumoren und entzündlichen Erkrankungen des menschlichen Colon.
Diss. Universität München (1983)
63. Steel G.G. und Bensted J.P.M.: In Vitro Studies of Cell Proliferation in Tumours - I
Europ. J. Cancer 1: 275-279 (1965)
64. Stöber U.: Die klinische Bedeutung des Malignitätsgrades beim Übergangsepithel-Karzinom der Harnblase.
Urologe(A) 23: 167-170 (1984)
65. Stöber U., Yilmaz H. und Atay Z.: Malignitäts-Graduierung des Harnblasenkarzinoms durch Zytologie.
Urologe(A) 23: 61-64 (1984)
66. Sufrin G., Meyer J.S., Martin S.A. und Schechtman K.: Proliferative Activity of Urothelium and Tumors of Renal Pelvis, Ureter, and Urinary Bladder Evaluated by Thymidine Labeling.
Urology 23, Suppl: 15-22 (1984)

67. Tola S., Tenho M., Korkala M.-L. und Järvinen E.: Cancer of the Urinary Bladder in Finland.
Int Arch Occup Environ Health 46: 43-51 (1980)
68. Tribukait B., Gustafson H. und Esposti P.: Ploidy and Proliferation in Human Bladder Tumors as Measured by Flow-Cytofluorometric DNA-Analysis and its Relations to Histopathology and Cytology.
Cancer 43: 1742-1751 (1979)
69. Tribukait B., Gustafson H. und Esposti P.: The Significance of Ploidy and Proliferation in the Clinical and Biological Evaluation of Bladder Tumours: a Study of 100 Untreated Cases.
Brit J Urol 54: 130-135 (1982)
70. Vahlensieck W., Oehr P. und Vogel J.: Nachweis des Carcinoma in situ der Harnblase mittels TPA-Antikörper.
Helv. chir. Acta 52: 447-450 (1985)
71. Wehweck H.: Autoradiographische Untersuchungen zum Proliferationsverhalten gynäkologischer Karzinome.
Diss. Universität München (1980)
72. van der Werft-Messing B., Schroeder F.H. und Bush H.: Bladder. Aus "Treatment of Cancer" Hrsg. Keith E. Halnan.
Chapman and Hall Ltd. 457-468 (1982)
73. Wiesmann E.: Medizinische Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1978)

Lebenslauf

Name:	Metzger
Vorname:	Karl
Geburtstag:	09. Mai 1950
Geburtsort:	München
Eltern:	Ludwig Metzger, selbst. Bäcker Anna Metzger geb. Sedlmair
Ausbildung und berufliche Tätigkeit:	1956 - 1964 Volksschule Geltendorf 1964 - 1967 Lehre als Bäcker mit Abschluß als Bäckergehilfe - Berufsschule München 1967 - 1971 Bäckergehilfe im elterlichen Betrieb 1972 - 1973 Bundeswehr und Zivildienst 1973 - 1978 Besuch des Kollegs St.-Matthias in Wolfratshausen - mit Erlangung der allgemeinen Hochschulreife 1979 - 1985 Studium der Humanmedizin an der LMU München - mit Ablegung des Staatsexamens November 1985 Erteilung der Approbation als Arzt

